

# دانشگاه علوم پزشکی قزوین



دانشکده پیراپزشکی

پایان نامه کارشناسی ارشد

گروه بیوتکنولوژی پزشکی

عنوان:

بیان و تخلص پروتئین نو ترکیب **FGFR2b**

و

بررسی تغییرات ساختاری آن بر اثر برهمکنش با فلزات سمی

نگارنده: مریم توده روستا

اساتید راهنما:

دکتر نعمت الله غیبی

دکتر داریوش ایلغاری

استاد مشاور:

دکتر مجید سیرتی ثابت

پاییز ۹۳

## چکیده

**زمینه:** عوامل رشد فیروبلاست (FGF) و گیرنده های آنها (FGFR) نقش اساسی در سلول ایفا می کنند. عدم تنظیم در مسیرهای سیگنالینگ FGF / FGFR با بسیاری از ناهنجاری ها و گسترش سرطان همراه است. از این گروه گیرنده فاکتور رشد فیروبلاستی نوع دو در مسیر پیام رسانی سلولی و تنظیم فرآیندهای مهم زیستی از جمله تمایز و تکثیر سلولی نقش اساسی دارد. اختلال در انتقال پیام این گیرنده با چندین اختلال پاتولوژیکی انسانی مرتبط می باشد. در این میان مسمومیت با فلزات سمی نیز یکی از مشکلات عمده در زیست شناسی سلولی است که اثرات آنها بر مسیرهای مختلف سیگنالینگ به اثبات رسیده است.

**هدف:** این مطالعه به منظور تخلیص ناحیه کینازی FGFR2b و بررسی اثر فلزات سمی سرب، کادمیوم، نیکل و آلومینیوم بر ساختار ناحیه کینازی رسپتور فاکتور رشد فیروبلاستی نوع دو انجام شد.

**مواد و روش ها:** در این مطالعه تجربی پروتئین نوترکیب با استفاده از پلاسمید pLEICS-01، باکتری BL21، القای IPTG، الکتروفورز و ستون حاوی Ni<sup>2+</sup>-NTA بیان و خالص شد. فعال بودن نمونه پروتئین بعد از دیالیز توسط تعامل با ناحیه SH2 فسفولیپاز C (PLC) طبیعی و موتان توسط روش PAGE بررسی شد. طیف فلوئورسانس، CD، FTIR و دنا تورا سیون شیمیایی پروتئین خالص شده در حضور غلظت های مختلف سرب، کادمیوم، نیکل و آلومینیوم بررسی و ارزیابی گردید.

**یافته ها:** بررسی SDS-PAGE قبل و بعد از القا شدن نشان داد که پروتئین بیان شده در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد محلول است. نتایج PAGE فعال بودن پروتئین خالص شده را تأیید کرد. بررسی طیف سنجی فلوئورسانس کاهش شدت نشر را با افزایش تدریجی غلظت هر چهار فلز سمی نشان داد. طیف CD نشان داد ناحیه ی کینازی مورد مطالعه ما دارای ترکیب بتای بیشتری نسبت به آلفا می باشد و نیز حضور کادمیوم، نیکل و آلومینیوم در محلول، ساختار دوم کیناز را تغییر نمی دهد، ولی سرب قادر به تغییر این ساختار می باشد. آزمایش انجام شده توسط FTIR نیز اثر سرب را تایید کرد. دنا تورا سیون شیمیایی ساختار سوم در حضور کادمیوم، نیکل و آلومینیوم ناحیه کینازی را تغییر نداد. ولی این تغییر در حضور سرب مشاهده شد.

**بحث و نتیجه گیری:** باتوجه به یافته ها، ناحیه کینازی گیرنده نوترکیب عامل رشد فیروبلاستی 2b که یک

پروتئین ۳۸ کیلودالتونی است تولید و خالص گردید و نشان داده شد که به صورت محلول و فعال است. تغییرات ساختار سوم و دوم ناحیه کینازی موجب ناپایدار شدن آن در حضور سرب گردید. این ناپایداری در سطح مولکولی می تواند موجب اختلال در مسیر پیام رسانی سلول شود. گرچه این ناپایداری در حضور کادمیوم، نیکل و آلومینیوم مشاهده نشد.

**کلیدواژه‌ها:** گیرنده فاکتور رشد فیروپلاستی، ناحیه کینازی، سیگنالینگ، فلزات سمی، طیف سنجی  
فلوئورسانس، CD، FTIR